

論文内容要旨

A chemical modulator of p53 transactivation that
acts as a radioprotective agonist

(p53 標的遺伝子の発現制御剤による放射線防護)

Molecular Cancer Therapeutics, 2018, in press.

主指導教員：稲葉 俊哉 教授

(原爆放射線医科学研究所 がん分子病態)

副指導教員：永田 靖 教授

(医歯薬保健学研究科 放射線腫瘍学)

副指導教員：村上 祐司 講師

(医歯薬保健学研究科 放射線腫瘍学)

高橋 一平

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

近年、技術革新による治療計画装置や放射線治療装置の高精度化、粒子線治療の開発など、放射線治療の物理的進歩により、正常組織への照射線量を低減しつつ、腫瘍へ集中して高線量を照射することが可能となった。しかし、腫瘍がリスク臓器に近接もしくは直接浸潤している症例では、正常組織の耐容線量に限界があるため、根治線量の投与は依然困難であり、副作用を軽減させる正常組織防護剤の開発など、生物学的アプローチの進歩が望まれる。放射線障害で生じる細胞応答には p53 が深く関与しているため、放射線防護効果を得るための創薬標的分子として p53 は非常に重要である。p53 制御剤は、正常な p53 機能を示す正常組織の放射線細胞死を選択的に防護し、p53 機能を喪失しているがん細胞は防護しないため、放射線被ばく事故での救命への応用だけでなく、正常組織だけを選択的に防護する放射線防護剤としての応用が期待されている。

我々の先行研究において、8-キノリノール誘導体を含む亜鉛キレート化剤が p53 依存性アポトーシス経路を抑制することで、放射線防護効果を示す p53 阻害剤の候補となることを見出し、p53 分子内の亜鉛結合部位を標的とする化合物の合成、探索を進め、p53 活性を制御するいくつかの新規放射線防護剤候補化合物を見出した。本研究では、これまでに活性評価された候補化合物の一つ、5-クロロ-8-キノリノール (5CHQ) について作用機序の解析および防護活性評価を行った。

その結果、5CHQ は、放射線細胞死に拮抗する p53 標的遺伝子 *CDKN1A* (遺伝子産物 p21) の発現を上方制御し、放射線細胞死を促進する p53 標的遺伝子 *BBC3* (遺伝子産物 PUMA) の発現を下方制御する p53 標的遺伝子発現制御作用を示し、放射線高感受性の p53 依存性細胞死を示すヒト T 細胞性白血病細胞株 MOLT-4 の放射線細胞死を抑制した。p21 誘導を亢進させるその薬効は、p53 の抗細胞死活性を高めるシード化合物として最適と考え、マウス照射実験で放射線防護効果の評価を行った。骨髄死相当線量 7.5 Gy の ICR マウス全身照射 (total-body irradiation; TBI) 試験では、30 日後のマウス生存率は、5CHQ 投与群は 50%、非投与群 0%であった ($p < 0.05$)。さらに、マウス前脚部の骨髄を鉛で遮蔽防護することによって骨髄死を回避する亜全身照射法 (sub-total-body irradiation; SBI) によって、腸管障害に対する放射線防護効果を検討したところ、30 日後のマウス生存率は、18Gy-SBI において、5CHQ 投与群は 90%、非投与群 40%、24Gy-SBI において、5CHQ 投与群 40%、非投与群 0%であった ($p < 0.05$)。防護活性を示す線量減少率 DRF (dose reduction factor) は、骨髄死相当線量の全身照射試験で 1.2、腸死相当線量の腹部照射試験で 1.3 と、新規の放射線防護剤シードとして良好な値を示した。また、5CHQ による放射線防護作用の p53 特異性に関しては、p53 の遺伝子発現を抑制したノックダウン細胞や、ノックアウトマウスを用い、p53 が正常に機能している細胞やマウスでのみ有効な p53 依存的防護効果を示すことを確認した。最後に、5CHQ の防護活性評価としてマウス腸上皮の病理組織学的解析を行い、21 Gy-SBI 3.5 日後のマウス陰窩において、5CHQ 投与マウスでは非投与マウスと比較して増殖が盛んな細胞が残存していることを確認した。また、21 Gy-SBI マウスの空腸上皮の qPCR 解析では、*Cdkn1a* mRNA 発現の亢進、および *Bbc3* mRNA 発現の低下を認め、5CHQ は、ヒト培養細胞における作用と同様の作用をマウス腸上皮に対しても示すことが明らかとなった。

本研究では、5CHQ が p53 依存的に放射線細胞死を抑制し、p53 標的遺伝子の発現制御においては放射線防護的な調節作用を示すことを明らかにした。生体に存在する p53 の潜在的な放射線防護活性を引き出すことで正常組織の急性障害を制御する新たな放射線防護剤開発戦略となることが期待される。